

LA CARDIOMYOPATHIE DILATÉE DU CHIEN : RÉSULTATS DE L'ÉTUDE EUROPEENNE LUPA

CANINE DILATED CARDIOMYOPATHY : RESULTS OF THE EUROPEAN PROJECT LUPA

Par Anne THOMAS¹
(Communication présentée le 2 mai 2013)

RÉSUMÉ

Plusieurs races de chiens sont prédisposées à la cardiomyopathie dilatée. Certaines, comme le Lévrier Irlandais, le Doberman ou encore le Boxer, sont bien documentées sur le plan clinique. Dans le cadre du projet européen LUPA, ces races ont fait l'objet d'études génétiques afin de rechercher les bases moléculaires associées à cette maladie. Plusieurs régions génomiques d'intérêt ont été cernées. Dans le même temps, deux mutations ont été décrites pour deux races distinctes aux Etats-Unis. Leur pertinence diffère selon l'appartenance géographique des populations testées. Cet article a pour objet de présenter l'avancée des connaissances génétiques dans le domaine de la cardiomyopathie dilatée canine obtenues grâce au projet LUPA.

Mots-clés : chien, cardiomyopathie dilatée, génétique, mutation, modèle animal.

SUMMARY

Dilated cardiomyopathy is a common disease in several canine large breeds. The clinical characteristics are very well described for some breeds like the Irish Wolfhound, the Doberman pinscher or the Boxer. In the frame of the European project LUPA, genetic studies were lead on these breeds to determine the molecular basis of the disease. Several genomic areas were highlighted. During the project, two mutations were described for two different canine breeds in the United States. According to the geographical origin of the population, the relevance of the mutations varies. This article presents the results of the LUPA project on genetic knowledge in dilated cardiomyopathy.

Key-Words: dog, dilated cardiomyopathy, genetic, mutation, model.

INTRODUCTION

Contexte du projet LUPA

De janvier 2008 à juin 2013, LUPA fut un projet collaboratif financé par la communauté européenne dans le cadre du 7^{ème} programme cadre de Recherche et Développement, réunissant vingt-deux laboratoires universitaires ou privés, répartis dans douze pays. Le but de ce projet d'envergure était de rechercher les bases moléculaires de maladies génétiques chez le chien, homologues à l'homme, pour permettre la structuration de la recherche européenne en génétique canine avec la création d'un

réseau et la mise à disposition de plateformes techniques. Plusieurs groupes de maladies ont été ciblées : des cancers (mélanomes, tumeurs mammaires), des maladies neurologiques (plusieurs formes d'épilepsie), immunitaires (diabète, atopie), cardiaques avec la maladie dégénérative de la valve mitrale et la cardiomyopathie dilatée, et un groupe de maladies à transmission monogénique. LUPA a pleinement atteint ses objectifs en permettant d'une part, de créer un réseau européen de vétérinaires et laboratoires de recherche poursuivant des projets en commun et, d'autre part, en caractérisant les bases moléculaires pour plusieurs maladies (Lequarré *et al.* 2011). Pour deux

(1) ANTAGENE, Laboratoire de Génomique Animale, 6 Allée du Levant, 69890 La Tour de Salvagny, France. athomas@antagene.com

d'entre elles, la transposition réussie chez l'homme a confirmé la pertinence du modèle canin pour la génétique médicale humaine (Merveille *et al.* 2010, Grall *et al.* 2011).

Intérêts de la recherche en génétique canine sur la cardiomyopathie dilatée.

Depuis le début des années 2000, le chien s'est imposé comme un modèle animal prometteur pour la médecine humaine. Près de 590 maladies génétiques, réparties sur plus de 400 races représentant autant d'isolats génétiques, sont répertoriées, dont plus de 300 seraient des modèles potentiels pour l'homme (voir le site : omia.angis.org.au/home). Des moyens très importants ont été engagés afin de séquencer le génome du chien et développer les outils génomiques facilitant les études génétiques dans cette espèce (Lindblad-Toh *et al.* 2005). L'espèce canine offre une structure unique de ses populations qui facilite les études génétiques et qui permet d'obtenir des résultats probants pour le bénéfice mutuel de l'homme et du chien (André & Plassais, 2012). Outre l'intérêt du modèle canin pour l'homme, la découverte de mutations impliquées dans les maladies génétiques canines trouve une application directe pour le chien dans le développement de tests génétiques de diagnostic ou de prédiction (**Figure 1**).

La cardiomyopathie dilatée (CMD) est l'une des multiples affections que les deux espèces partagent. Il s'agit d'une maladie cardiaque, caractérisée par une dilatation et une altération de la contraction du ventricule gauche ou des deux ventricules et conduisant à une insuffisance cardiaque. Chez l'homme, la prévalence de la CMD est estimée à 36,5 cas pour 100 000 personnes. De 25 à 50% des cas seraient d'origine familiale. Des mutations ont été trouvées dans 43 gènes, principalement des gènes codant pour des protéines du sarcomère, du cytosquelette ou encore des protéines nucléaires. Plusieurs cas familiaux demeurent encore inexplicables (McNally *et al.* 2013).

Chez le chien, les grandes et moyennes races sont plus particulièrement prédisposées à la CMD. Plusieurs études ont mis en évidence des incidences importantes, elles ont aussi permis de préciser les caractéristiques cliniques pour chacune de ces races. Dans LUPA, les races suivantes ont été ciblées : le Lévrier Irlandais, le Doberman, le Terre-Neuve, le Dogue Allemand et le Boxer. Cet article reprend les résultats obtenus par LUPA concernant les CMD du Lévrier Irlandais, du Doberman et du Boxer ; les résultats sur les races du Dogue Allemand et du Terre-Neuve sont en cours d'analyse.

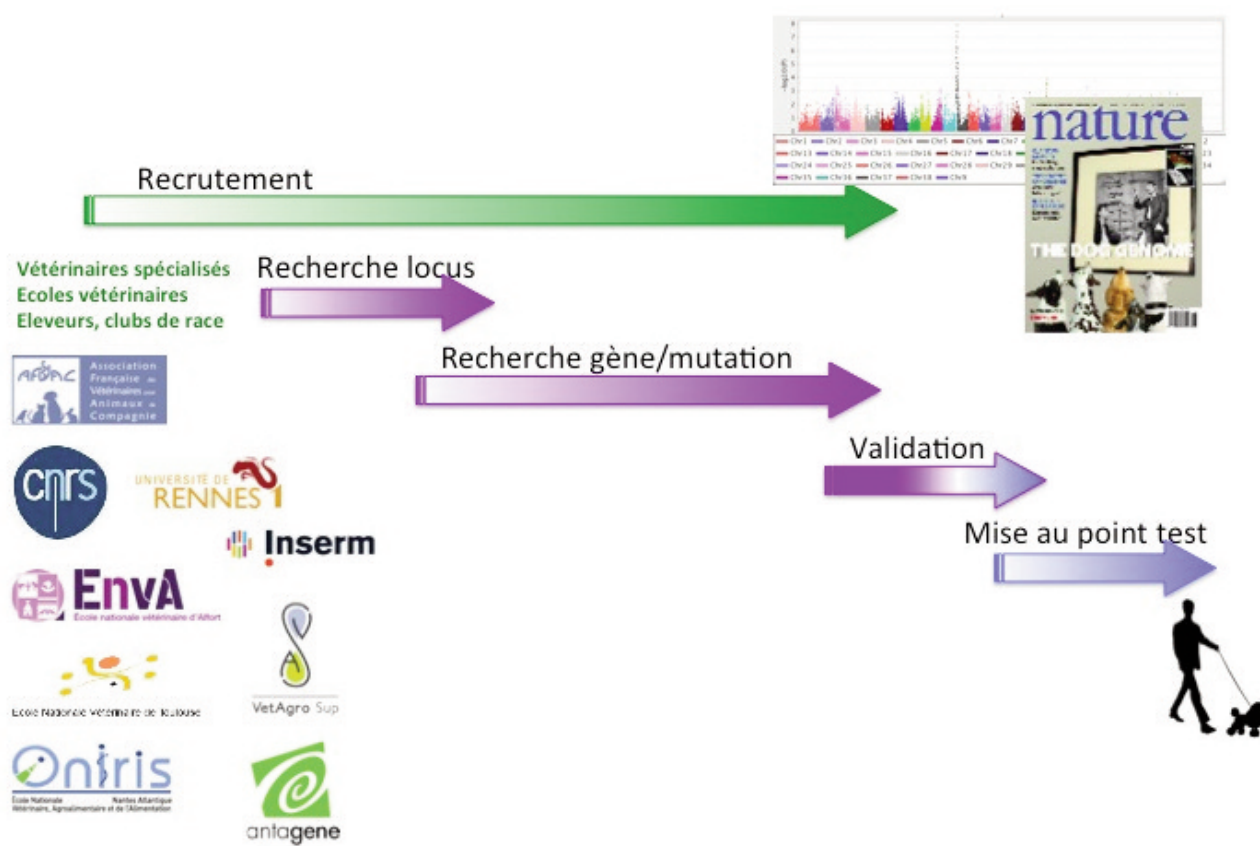


Figure 1 : Etapes du processus de Recherche et Développement en génétique canine. La recherche commence par le recrutement de chiens sains et témoins, réalisé en collaboration avec des praticiens vétérinaires (écoles vétérinaires et cliniques privées) et avec le concours des propriétaires, clubs de race et éleveurs. Lorsque le nombre d'animaux est suffisant, les études génétiques débutent, le but est de cerner progressivement le(s) locus, puis le(s) gène(s) et enfin la(les) mutations associées à la maladie. L'étape de validation permet d'effectuer les vérifications nécessaires pour s'assurer au mieux de l'implication de la mutation dans la maladie. Enfin, un test est développé pour être mis à disposition du public.

ÉTUDE DE LA CMD CHEZ LE LÉVRIER IRLANDAIS

Une étude portant sur 500 lévriers irlandais a estimé la fréquence de la maladie à près de 20% dans cette race. L'âge moyen d'apparition de la CMD a été estimé à 4,52 +/- 2,0 ans et il semble que les femelles sont moins atteintes que les mâles et développent une insuffisance cardiaque plus tardivement (Vollmar, 2000). Les valeurs échocardiographiques de référence ont été établies pour cette race, facilitant ainsi le dépistage de la maladie (Vollmar, 1999). Cependant, la CMD chez le Lévrier Irlandais comporte des spécificités cliniques avec la présence éventuelle de fibrillation atriale, précédant ou suivant l'apparition de la dilatation cardiaque.

L'étude du mode de transmission de la CMD pour le lévrier irlandais montre sa nature complexe et l'hypothèse d'un gène majeur avec des effets d'allèles mineurs, incluant un allèle sur un chromosome sexuel (les mâles sont plus souvent malades), est la plus probable. Le mode de transmission monogénique de la maladie a été rejeté (Distl *et al.* 2007). L'évaluation de plusieurs gènes candidats, incluant la tafazzine situé sur le chromosome sexuel X, n'a pas permis jusqu'à maintenant de trouver des mutations impliquées dans la maladie (Philipp, 2007a, 2007b). La recherche d'association génétique sur une population non apparentée de malades et de témoins a alors été réalisée dans le cadre du projet LUPA.

Le recrutement des animaux a été effectué en Allemagne majoritairement, par le Dr A. Vollmar, en France avec le concours du club de race RALIE et en Suède. En France, un protocole d'examen a été rédigé. Il est téléchargeable sur www.ralie.fr, site du « rassemblement des amateurs de lévriers d'Irlande et d'Écosse (R.A.L.I.E) ». Il permet de standardiser les examens clinique, échocardiographique et électrocardiographique. Pour chaque animal, outre ces examens, un prélèvement sanguin et la copie du pedigree sont demandés. Les critères de sélection des animaux sains ont été définis par l'absence de cardiopathie après l'âge de 7 ans. Au total, 757 chiens ont été examinés et prélevés (prise de sang), dont 204 en France (cf **tableau 1**). Sur l'ensemble des chiens, 106 chiens atteints et 84 témoins ont été retenus pour l'étude d'association pangénomique. Outre les critères de sélection clinique, ces animaux devaient avoir le moins de lien de parenté possible. La petite taille des effectifs européens ne laissait pas apparaître de stratification de population significative d'un pays à l'autre et les données génétiques ont pu être traitées ensemble.

L'ADN des prélèvements a été extrait et leur génotypage réalisé sur puce « Illumina haute densité », comprenant 172 942 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism), au Centre National de Génotypage à Evry (France). Les analyses statistiques ont utilisé différents modèles permettant de prendre en compte la consanguinité des individus et la stratification des données (Philipp *et al.* 2012).

	Echantillons (nombre de chiens)	% de la population recrutée	âge moyen au moment du diagnostic (an)	intervalle âge au moment du diagnostic (an)
Atteint	23	11,3	4,0	1,9-7,2
Douteux	19	9,3	3,8	1,4-7,6
Fibrillation atriale	3	1,5	6,5	5,6-7,3
Sain	150	73,5	3,4	0,3-9,4
non renseigné	9	4,4	-	
Total	204	100		

Tableau 1 : Effectifs et répartition du recrutement des Lévrier Irlandais réalisé en France. Pour chacune des catégories, la moyenne d'âge et les limites sont indiquées.

Une association significative d'un SNP sur le chromosome canin CFA (Canis Familiaris) 37 a été identifiée (Figure 2). Cinq autres SNPs, positionnés sur les CFA 1, 10, 15, 17 et 21, apparaissent également associés à la maladie dans les deux modèles de calcul statistique utilisés, sans atteindre le seuil de significativité. La pluralité des loci associés à la CMD chez le lévrier irlandais corrobore la complexité du mode de transmission. Les gènes situés à proximité des SNPs mis en évidence ont été analysés en prenant en compte leur fonction connue. Plusieurs gènes du métabolisme des lipides, responsables parfois de dysfonctionnement, peuvent conduire à des problèmes cardiaques. Bien qu'ils aient été étudiés en priorité, aucune mutation impliquée dans la CMD du Lévrier Irlandais n'a été, à ce jour, mise en évidence (Philipp *et al.* 2012).

ÉTUDE DE LA CMD CHEZ LE DOBERMANN

Décrite depuis le début des années 80, la CMD du Dobermann se traduit à la fois par des anomalies rythmologiques (les arythmies ventriculaires sont particulièrement précoces et graves dans cette race) et des altérations plus classiques du myocarde. Fréquemment, une mort soudaine due à ces arythmies survient avant l'insuffisance cardiaque congestive. Une étude récente a estimé la fréquence de la CMD à 58,2% chez les Dobermann européens (Wess *et al.* 2010). L'âge moyen d'apparition d'une insuffisance cardiaque congestive est de 6,7 ans, mais il varie de 1 an à plus de 8 ans (Calvert *et al.* 1982). Une étude américaine a montré que le mode de transmission de la CMD du Dobermann était autosomique dominante (Meurs *et al.* 2007).

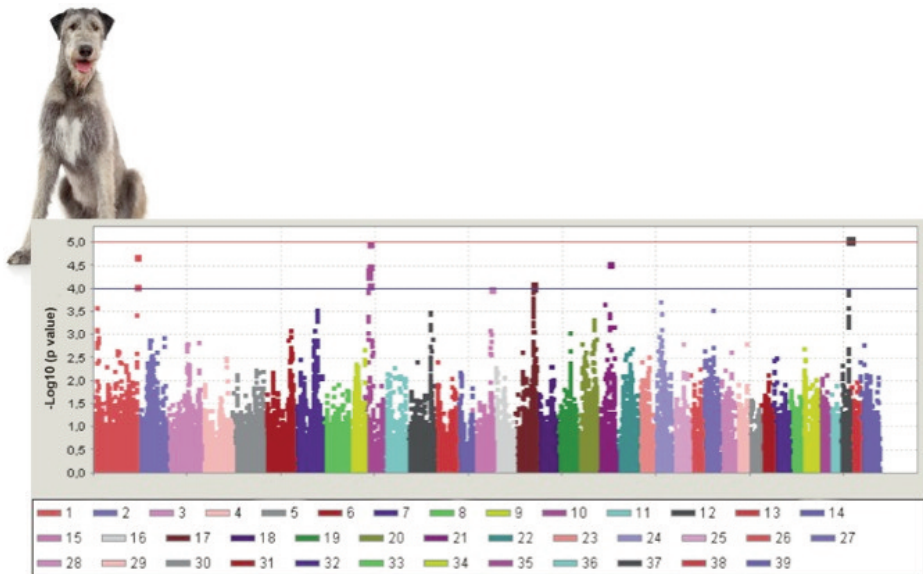


Figure 2 : Manhattan plot de l'étude génétique d'association pangénomique pour la cardiomyopathie dilatée chez le Lévrier Irlandais. Les p-value(-log10) associées à chaque SNP sont représentées pour chaque SNP : en abscisse est indiqué le numéro du chromosome canin sur lequel est situé le SNP, les chromosomes sont différenciés par couleur. La ligne rouge indique la valeur seuil de probabilité de lien significatif avec la CMD. La ligne bleue indique la valeur seuil de probabilité pour une association suggérée avec la CMD. (D'après Philipp *et al.* 2012)

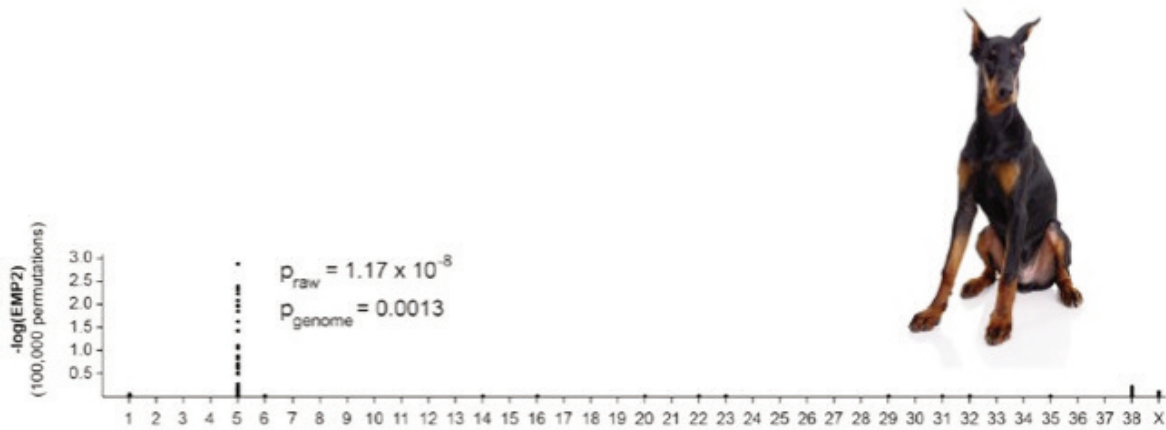


Figure 3 : Manhattan plot de l'étude génétique d'association pangénomique pour la cardiomyopathie dilatée chez le Dobermann. Les p-value associées à chaque SNP sont représentées en abscisse, pour chacun des chromosomes sur lequel le SNP est situé. La méthode de calcul statistique utilisée a permis de corriger ces valeurs en ne faisant apparaître que celles qui étaient significatives. (D'après Mausberg *et al.* 2011)

Dans le cadre du projet LUPA, le dépistage clinique a été réalisé principalement sur deux sites : le premier à Munich par l'équipe du Dr Gerhard Wess et le second à Liverpool par l'équipe du Dr Joanna Dukes-McEwans. Outre un examen échocardiographique, le rythme cardiaque a été étudié pendant 24 heures grâce à un enregistrement Holter par l'équipe allemande. Les chiens témoins devaient satisfaire les critères suivants : être âgé de plus de 6 ans, ne présenter aucun signe clinique de CMD, avoir des mesures échocardiographiques normales et moins de 50 extrasystoles ventriculaires par 24 heures. Les chiens atteints avaient des mesures échocardiographiques anormales et/ou présentaient plus de 100 extrasystoles ventriculaires par 24 heures. Une première cohorte allemande de 71 chiens atteints et 70 chiens sains a ainsi été sélectionnée et génotypée. L'analyse statistique a montré une association significative entre la CMD du Doberman et des marqueurs du CFA 5 (Figure 3), indiquant un locus de 3,6 Megabases (Mb) (Mausberg *et al.* 2011). Ce résultat a été reproduit sur la cohorte anglaise de 40 chiens atteints et 34 chiens témoins (T. Leeb, 2012). Le séquençage des gènes du locus n'a, pour l'instant, mis aucune mutation en évidence.

Au cours du projet LUPA, l'équipe américaine du Dr Meurs a publié les résultats d'une étude génétique montrant qu'une mutation dans le gène PDK4, situé sur le CFA 14, est associée à la CMD dans une population américaine de Doberman (Meurs *et al.* 2012). Cette mutation américaine a été testée sur la cohorte européenne de Doberman et aucune différence significative de fréquence n'a été observée entre les chiens témoins et les chiens atteints de CMD. De plus, la mutation a été retrouvée dans 21 autres races, chez des chiens non atteints de CMD. L'implication de la mutation de PDK4 dans la CMD chez le Doberman n'a pu être mise en évidence en Europe (Owczarek-Lipska *et al.* 2013). Néanmoins, les critères de sélection des chiens atteints et témoins varient entre les études américaine et européenne. En particulier, le nombre d'extrasystoles ventriculaires n'a pas été calculé dans l'étude du Dr Meurs et l'âge requis pour les témoins était de 10 ans dans l'étude américaine contre 6 ans dans l'étude européenne.

L'ARYTHMIE DU VENTRICULE DROIT CHEZ LE BOXER

Une forme particulière de CMD chez le Boxer se rapproche de celle du Doberman avec la présence de dysrythmies ventriculaires principalement droites potentiellement létales mais sans dilatation cavitaire marquée. Décrite depuis le début des années 1980, son mode de transmission apparaît comme étant autosomique dominant. Cependant, la présentation de la maladie semble variable dans les descendants atteints, suggérant une pénétrance incomplète (Meurs, 2004) ou une expressivité variable et donc l'influence d'autres gènes et/ou d'autres facteurs environnementaux ou épigénétiques.

En 2009, une étude génétique comportant le génotypage de 89 boxers américains a montré une délétion de 8 paires de bases

dans le gène de la striatine, sur le chromosome 17 canin, (Meurs *et al.* 2010). Une première étude sur 84 Boxers recrutés au Royaume-Uni et génotypés pour cette délétion ne montrait pas de ségrégation entre la maladie et la mutation (Dukes-McEwan *et al.* 2010).

Le recrutement des cohortes de chiens atteints et sains a continué au sein de LUPA, au Royaume-Uni majoritairement. Les critères de sélection des chiens atteints étaient semblables à ceux de l'étude américaine. Pour la cohorte de chiens témoins, les critères ont été plus sélectifs avec un nombre d'extrasystoles ventriculaires toléré inférieur à 10 par 24 heures et un âge supérieur à 8 ans, contre moins de 100 extrasystoles ventriculaires par 24 heures chez des sujets de plus de 6 ans dans l'étude américaine. Le génotypage a été réalisé sur une cohorte de 62 chiens atteints et 39 chiens témoins. Les premières analyses montrent une association statistique significative avec une région du chromosome 17 canin. D'autres régions génomiques apparaissent également associées, avec une significativité moindre (Jennifer Meadows, 2013). Le recrutement des chiens sains et atteints ainsi que les analyses génétiques se poursuivent.

CONCLUSION

Les analyses cliniques et génétiques réalisées chez le chien dans le cadre d'études sur la transmission de la cardiomyopathie dilatée montrent que leur interprétation est complexe. La caractérisation clinique la plus précise possible est essentielle pour le bon déroulement des études génétiques qui suivent. Les études cliniques poussées mettent en évidence la présence de plusieurs signes cliniques, évoluant dans le temps, pour lesquels l'âge de l'animal et l'ordre d'apparition des symptômes seraient autant de paramètres à prendre en compte lors de la construction des cohortes. Les chiens participant à ces études appartiennent à des particuliers et leur suivi dépend de la compréhension et de la disponibilité du propriétaire. Le partenariat mis en place avec le club du RALIE est intéressant dans le sens où il facilite ce suivi.

Chacune des CMD étudiées est spécifique des races ciblées dans LUPA et la mise en évidence de nouveaux loci spécifiques associés à cette maladie dans les différentes races est encourageante et renforce l'hypothèse de l'existence de combinaisons alléliques de plusieurs gènes spécifiques aux différentes races. Ces recherches mettent en lumière la complexité de la maladie. Les études se poursuivent afin de déterminer les mutations impliquées dans la CMD propre à chacune des races avec, pour objectif, de concevoir des tests génétiques.

À ce jour, les loci identifiés chez le chien n'ont pas été décrits dans les études sur les formes humaines de CMD. Les modèles canins pourraient alors fournir de nouveaux gènes candidats pour l'Homme.

REMERCIEMENTS

Les entités et personnes impliquées dans le projet CMD de LUPA étaient les suivantes :

- L'université suédoise des Sciences agricoles (Suède) avec les Prs Jens Häggström et Göran Andersson, les Drs Susanne Björnerfeldt, Katja Höglund, Ingrid Ljungvall et Anna Tidholm,
- L'université d'Uppsala (Suède) avec le Dr Jennifer Meadows,
- L'université de Berne (Suisse), avec le Pr Tosso Leeb et les Drs Theresa Mausberg, Marta Owczarek-Lipska, Cord Drögemüller, Michaela Drögemüller et Vidhya Jagannathan,
- L'université de Munich (Allemagne) avec les Drs Gerhard Wess, Julia Simak et Lisa Keller,
- L'université de médecine vétérinaire de Hanovre (Allemagne) avec le Dr Ute Philipp, en collaboration avec le Dr Andrea Vollmar,
- L'université de Liverpool (Grande-Bretagne) avec les Drs Joanna Dukes-McEwan, Hannah Stephenson, Sonja Fonfara et Jordi Lopez-Alvarez,
- Le laboratoire d'analyses génétiques Antagene (France) avec le Dr Anne Thomas, Caroline Dufaure de Citres, Delphine Rondier, Aurélie Fangain et Jérôme Mary.
- L'université de Liège (Belgique), en tant que coordinateur de l'ensemble de LUPA avec les Drs Anne-Sophie Lequarré et Marilou Ramos-Pamplona,

Nous remercions très sincèrement tous les propriétaires, éleveurs et vétérinaires qui ont participé à cette étude, plus particulièrement pour la France, le club du RALIE, son président le Dr Frédéric Maison et les membres du bureau qui ont mis à notre disposition tous les documents utiles, ainsi que le Dr Jean-François Rousselot pour son implication.

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Le projet LUPA s'est déroulé de janvier 2008 à juin 2012 et a été financé par la Commission Européenne dans le 7^e Programme Cadre de la Recherche et du Développement. En France, trois partenaires y participaient: le CNRS avec l'équipe Génétique du Chien du Dr Catherine André (Rennes), l'École Vétérinaire de Maisons-Alfort, dont le contact était le Dr Laurent Tiret du laboratoire de Génétique Cellulaire et Moléculaire et où plusieurs services étaient impliqués, dont celui de Cardiologie avec le Pr Valérie Chetboul, ainsi que la société Antagene, laboratoire de recherche et d'analyses en génomique animale avec le Dr Anne Thomas (Lyon).

BIBLIOGRAPHIE

- André, C. & Plassais, J. 2012. Le chien dans la pathologie et la génétique comparée : exemples de maladies et de gènes partagés entre l'homme et le chien. *Bull Acad Vét France*. 165 : 215-224.
- Calvert, C.A., Chapman, W.L., Toal, R.L. 1982. Congestive cardiomyopathy in Doberman pinscher dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 181 : 598-602.
- Distl, O., Vollam, A.C., Brosch, C., Hamann, H., Fox, P.R. 2007. Complex segregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish Wolfhounds. *Heredity*. 99 : 460-465.
- Dukes-McEwan, J., Stephenson, H., Wotton, P., Cattanaach, B. 2010. Cardiomyopathy in Boxer dogs. *Veterinary Times*. 40 : 6-9.
- Grall A., Guaguère, E., Planchais, S., Grond, S., Bourrat, E., Hausser, I., Hitte, C., Le Gallo, M., Derbois, C., Kim, G.J., et al. 2012. PNPLA1 mutations cause autosomal recessive congenital ichthyosis in golden retriever dogs and humans. *Nat Genet* 44 : 140-147.
- Leeb, T. 2012. Communication personnelle dans le cadre du projet LUPA.
- Lequarré, A.S., Andersson, L., André, C., Fredholm, M., Hitte, C., Leeb, T., Lohi, H., Lindblad-Toh, K., Georges, M. 2011. LUPA : a European initiative taking advantage of the canine genome architecture for unravelling complex disorders in both human and dogs. *Vet J*. 189 : 155-159.
- Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., Karlsson, E.K., Jaffe, D.B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J.L., Kulbokas, E.J. 3rd, Zody, M.C. et al. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 438 : 803-819.
- Mausberg, T.B., Wess, G., Simak, J., Keller, L., Drögemüller, M., Drögemüller, C., Webster, M.T., Stephenson, H., Dukes-McEwan, J., Leeb, T. 2011. A locus on chromosome 5 is associated with dilated cardiomyopathy in Doberman pinschers. *PLoS One*. 6 : e20042.
- McNally, E.M., Golbus, J.R., Puckelwartz, M.J. 2013. Genetic mutations and mechanisms in dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 123 : 19-26.
- Meadows, J. 2013. Communication personnelle dans le cadre du projet LUPA.
- Merveille, A.C., Davis, E.E., Becker-Heck, A., Legendre, M., Amirav, I., Bataille, G., Belmont, J., Beydon, N., Billen, F., Clément, A. et al. 2010. CCD39 is required for assembly of inner dynein arms and the dynein regulatory complex and for normal ciliary motility in humans and dogs. *Nat Genet*. 43 : 72-78.

- Meurs, K.M. 2004. Boxer dog cardiomyopathy: an update. *Vet Clin Small Anim.* 34 :1235-1244.
- Meurs, K.M., Mauceli, E., Lahmers, S., Acland, G.M., White, S.N., Lindblad-Toh, K. 2010. Genome-wide association identifies a deletion in the 3' untranslated region of Striatin in a canine model of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Hum Genet.* 128 : 315-324.
- Meurs, K.M., Lahmers, S., Keene, B.W., White, S.N., Oyama, M.A., Mauceli, E., Lindblad-Toh, K. 2012. A splice site mutation in a gene encoding for PDK4, a mitochondrial protein, is associated with the development of dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *Hum Genet.* 131 : 1319-1325.
- Owczarek-Lipska, M., Mausberg, T.B., Stephenson, H., Dukes-McEwan, J., Wess, G., Leeb, T. 2013. A 16-bp deletion in the canine PDK4 gene is not associated with dilated cardiomyopathy in a European cohort of Doberman Pinschers. *Anim Genet.* 44 : 239.
- Philipp, U., Vollmar, A., Distl, O. 2007a. Evaluation of six candidate genes for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Anim Genet.* 39 : 88-89
- Philipp, U., Broschk, C., Vollmar, A., Distl, O. 2007b. Evaluation of tafazzin as candidate for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *J Hered.* 98 : 506-509.
- Philipp, U., Vollmar, A., Häggström, J., Thomas, A., Distl, O. 2012. Multiple loci are associated with dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *PLoS One.* 7:e36691.
- Vollmar, A.C. 1999. Echocardiographic measurements in the Irish Wolfhound : reference values for the breed. *J Am Anim Hosp Assoc.* 35 : 271-277.
- Vollmar, A.C. 2010. The prevalence of cardiomyopathy in the Irish Wolfhound : a clinical study of 500 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 36 : 125-132.
- Wess, G., Schulze, A., Butz, V., Simak, J., Killich, M., Keller, L.J., Maeurer, J., Hartmann, K. 2010. Prevalence of dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers in various age groups. *J Vet Intern Med.* 24 : 533-538.

